

## ¿DESEMPEÑA LA SEROSA PERITONEAL UN PAPEL ACTIVO EN LA FISIOLÓGIA REPRODUCTIVA DE LA CERDA?

Yániz, J.<sup>1</sup>, Santolaria, P.<sup>1</sup>, Hunter, R.H.F.<sup>2</sup>, López-Gatius, F.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept. Producción Animal. Universidad de Zaragoza, Huesca, Spain. jyaniz@unizar.es

<sup>2</sup>Unit for Reproduction of Clinics. University of Veterinary Medicine. Hanover Foundation. Büntenweg 15 30559 Hanover. Germany.

<sup>3</sup>Dept. Producción Animal. Universidad de Lleida. 25198 Lleida. Spain.

### INTRODUCCION

El peritoneo es más que una superficie deslizante, antiadherente y protectora. También juega un papel importante en muchos acontecimientos que suceden en la cavidad peritoneal, tales como el transporte trans-peritoneal de moléculas y fluidos, la presentación de antígenos, la inflamación y reparación tisular, la coagulación y fibrinólisis, y la adhesión de células tumorales (Mutsaers, 2004). Algunos indicios sugieren que las células mesoteliales de la serosa peritoneal participan también activamente en la síntesis y liberación de sustancias hacia la cavidad peritoneal, contribuyendo en la formación del líquido peritoneal.

No existe una barrera selectiva que separe el líquido peritoneal y el oviductal. Es posible que el fluido peritoneal o sus constituyentes puedan entrar en los oviductos, especialmente en el momento de la ovulación, en el que se crean corrientes para transportar los ovocitos (Soldati *et al.*, 1993). Por lo tanto, el microambiente en el que suceden las interacciones de los gametos in vivo puede estar constituido no sólo por líquido oviductal sino también por líquido peritoneal y folicular.

Existen grandes diferencias en la cantidad de líquido peritoneal que producen las especies de animales domésticos, por lo que su participación en la fisiología reproductiva puede ser también muy variable. En los extremos tenemos a la vaca, que apenas produce líquido peritoneal, y la cerda, con abundante líquido peritoneal, sobre todo tras la ovulación. En este trabajo hemos estudiado la ultraestructura de la serosa peritoneal que cubre el tracto genital en la cerda para determinar el grado de actividad funcional y secretora de las células mesoteliales de la serosa, como indicadores de su participación en la formación del líquido peritoneal. En estudios previos se ha descrito la superficie serosa de la bolsa ovárica en el hámster (Martin *et al.*, 1981), la serosa que cubre el ligamento ancho de la cerda en un estudio somero con microscopio electrónico de barrido (Doboszynska *et al.*, 1999), y el mesotelio que recubre el tracto genital y estructuras adyacentes en la vaca (Yániz *et al.*, 2000).

### MATERIAL Y MÉTODOS

La superficie serosa peritoneal de 14 cerdas, 7 en la fase folicular del ciclo éstrico y 7 en la fase luteal se estudió mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). El mesotelio de cinco cerdas más, 3 en fase folicular y 2 en fase luteal, se examinó mediante microscopía electrónica de transmisión (MET).

Las muestras se tomaron del infundíbulo, ampolla, istmo, ápice del cuerno uterino y ligamento ancho. Inmediatamente tras el sacrificio, las piezas se sumergieron en una solución de glutaraldehído al 2,5 % en tampón fosfato. Tras un periodo de fijación de 24 horas a 4°C, se postfijaron con tetraóxido de osmio durante 1 hora y se deshidrataron en gradientes crecientes de acetona.

Posteriormente, las muestras destinadas a MEB se secaron por punto crítico, se colocaron en los soportes y se recubrieron con carbón y oro. La observación se realizó con

un microscopio electrónico de barrido Zeiss DSM 940 a 15 kV. Las muestras destinadas a MET se incluyeron en bloques de araldita. Se realizaron primero cortes semi-finos de 1 µm de grosor y se tiñeron con azul de toluidina para su observación en el microscopio electrónico. Posteriormente se realizaron cortes ultra-finos de las áreas seleccionadas utilizando una cuchilla de diamante en el ultramicrotomo. Los cortes ultra-finos se colocaron en rejillas de cobre, se contrastaron con acetato de uranio y citrato de plomo y se examinaron en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM910 a 80 kV.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las observaciones mediante MEB de la cara externa del infundíbulo de la cerda revelaron que la mucosa oviductal (endosálpinx) sobrepasa el margen libre, continuando hacia la cara externa, en la que forman una banda de varios mm en la que se aprecia la presencia de formaciones polipoides. La transición entre la mucosa y la serosa es gradual, con células del epitelio de la mucosa oviductal (endosálpinx) avanzando hacia la zona mesotelial individualmente o en grupos. La presencia de grupos de células del epitelio oviductal se observó incluso en la serosa que cubre la ampolla. La peculiaridad del oviducto de ser el único órgano que se abre hacia la cavidad peritoneal determina una continuidad entre la mucosa oviductal y la serosa en el infundíbulo.

En la cerda, al igual que describimos previamente en la vaca (Yániz *et al.*, 2000), la transición entre ambos epitelios no se encuentra exactamente en el margen libre, sino desplazada hacia la cara peritoneal (Fig. 1). A diferencia de la vaca, la transición entre la mucosa y la serosa es gradual y la presencia de células del endosálpinx incluso hasta la ampolla determina la existencia de células secretoras que producen sustancias propias del fluido oviductal y las liberan a la cavidad peritoneal, contribuyendo a la formación del líquido peritoneal. Por otro lado, la presencia de un epitelio densamente ciliado en la cara externa del infundíbulo y la ampolla durante la fase folicular puede contribuir a la formación de corrientes para la captación de los ovocitos tras la ovulación.

En cuanto a las células mesoteliales, las imágenes del MEB mostraron indicios de elevada actividad biosintética y secretora de las células mesoteliales. En ellas se observaron unas células mesoteliales prominentes y cubiertas por una densa capa de microvellosidades largas, que a menudo impedía observar los límites celulares. En la mayoría de las muestras se observó también una abundancia de prominencias bulbosas, que se desprenden de la superficie celular (Fig. 2) y de cilios solitarios.

Las imágenes del MET permitieron apreciar unas células mesoteliales redondeadas, a menudo con una proyección basal hacia el estroma. El núcleo mostró un aspecto irregular y un nucleolo bien desarrollado. El citoplasma contenía muchos ribosomas libres, abundante retículo endoplásmico rugoso (RER), un aparato de Golgi bien desarrollado (frecuentemente varios por célula), así como un sistema vesicular muy desarrollado compuesto por vesículas, vacuolas, complejos vesículo-vacuolares y cuerpos multivesiculares. También se observó la presencia de cuerpos laminares aislados en el citoplasma de las células mesoteliales. Las uniones intercelulares son complejas y tortuosas, con la presencia frecuente de dilataciones intercelulares asociadas a vacuolas o cuerpos laminares que varían en tamaño. Las vesículas, vacuolas y formaciones multivesiculares se proyectan hacia la superficie externa de las células, mostrando un proceso activo de secreción.

Todas las observaciones realizadas indican que tienen una importante actividad biosintética y secretora en las zonas estudiadas, por lo que podrían contribuir a la formación del líquido peritoneal y por lo tanto del oviductal. Aunque a menudo se describe el mesotelio como una capa de células aplanadas poligonales, la presencia de células mesoteliales cúbicas se ha descrito también en otros estudios, asociado a una mayor actividad biosintética de estas células (Bird, 2004; Mutsaers, 2004). Otros signos de activación de las células mesoteliales son la abundancia de microvellosidades, de cilios solitarios y de

vesículas en la superficie (Bird, 2004). En nuestro estudio hemos corroborado además esta importante actividad funcional mediante estudios de microscopía electrónica de transmisión.

No se observaron diferencias morfológicas claras entre las diferentes regiones analizadas ni entre la fase folicular y luteal, aunque la comprobación de este aspecto requiere la realización de estudios morfométricos más exhaustivos.

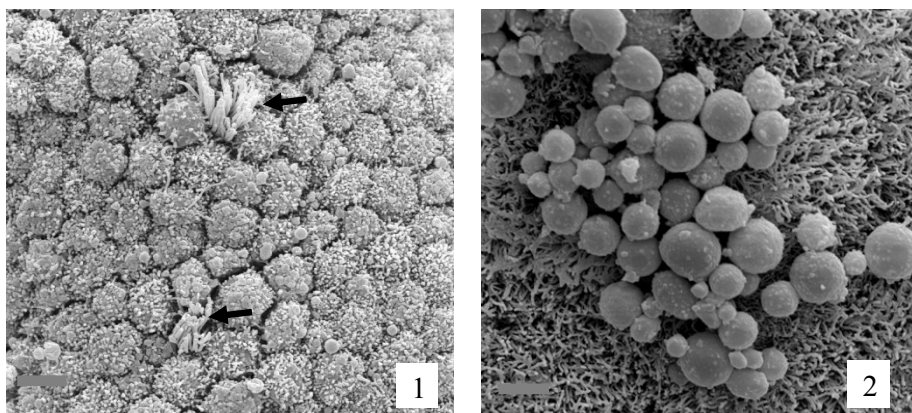


Fig. 1. Esta imagen ilustra la presencia de células ciliadas individuales propias del endosalpinx (flechas) entre las células mesoteliales de la cara externa del infundíbulo, en una zona próxima a la ampolla. Barra de escala = 6  $\mu$ m.

Fig. 2. Esta fotografía de la superficie serosa muestra la acumulación de prominencias secretoras observada en algunas muestras. Barra de escala = 5  $\mu$ m.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bird SD. 2004. Mesothelial primary cilia of peritoneal and other serosal surfaces *Cell Biology International* 28:151-159.
- Doboszynska T, Andronowska A, Janiszewska L, Sobotka A. 1999. Morphological features of lymphatic and mesothelial communications in the broad ligament of the pig. *Lymphology* 32:132-150.
- Martin GG, Sack M, Talbot P. 1981. The structure of bursae ovaricae surrounding the ovaries of the golden hamster. *Anat Rec* 201:485-498.
- Mutsaers SE. 2004. The mesothelial cells. *Int J Biochem & Cell Biol* 36: 9-16.
- Soldati GA, Piffaretti Yanez A, Medici G, Eppenberger U, Balerna M. 1993. Purification of a factor from human peritoneal fluid that is able to immobilize spermatozoa. *Hum Reprod* 8:428-36.
- Yániz JL, Santolaria P, López-Béjar M, Rutllant P, López-Gatius F. 2000. A scanning electron microscopy study of the peritoneal mesothelium covering the genital area in the cow. *Anat Histol Embryol* 29:149-155.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Matadero Municipal de Huesca y Matadero de Zuera por su ayuda en la obtención de muestras de cerda y al Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Lleida por su asistencia técnica.